

木糖發酵生產木糖醇之研究

趙士慶、陳齊聖

E-mail: 8809452@mail.dyu.edu.tw

摘要

木糖醇為一優良之天然甜味劑，可作糖尿病患之代糖品及其它多項生理機能之用途，在食品工業上具有相當潛力。本研究使用自蔗渣篩選分離出之酵母菌 *Candida subtropicalis* C22 為菌株，以木糖為原料發酵生產木糖醇，其發酵過程中可產生木糖醇及少量酒精。研究方法以搖瓶培養為主，單瓶培養液容積為 150ml。在發酵基質濃度方面，以 15% 木糖起始濃度具有最佳發酵結果。而木糖濃度越高，木糖醇轉化率越低，酒精產率亦越低。就大量發酵而言，過低的木糖初始濃度將使發酵效率偏低，而過多之木糖初始濃度將抑制菌體之生長及發酵。在界面活性劑影響木糖發酵之探討方面，以 20% 木糖為起始濃度時，九天後可產生 17.5% 木糖醇。添加界面活性劑 (Triton X-100) 對木糖發酵具有正面效果。在相同發酵條件下，添加 2% 界面活性劑可將原九天基質消耗縮短為五天，然木糖醇轉化率將略為減少。目前木糖醇產率為 0.0359g/hr/L/g cell。

關鍵詞：木糖、木糖醇、界面活性劑、*Candida subtropicalis*

關鍵詞：木糖；木糖醇；界面活性劑；亞熱帶假絲酵母

目錄

第一章 緒論 1 第二章 文獻回顧 第一節 木糖醇之功能介紹 3 1.1 蔗糖的替代品 3 1.2 防止蛀牙 3 1.3 減肥 4 1.4 食品添加劑 4 1.5 靜脈注射營養劑 5 第二節 生產木糖醇之主要原料來源 5 第三節 以微生物發酵生產木糖醇 6 第四節 酵母菌利用木糖之代謝途徑 7 第五節 影響木糖醇發酵因素之探討 8 5.1 糖濃度 8 5.2 氮源 9 5.3 界面活性劑 10 5.4 溶氧濃度 10 5.5 溫度 11 5.6 pH 值 12 第六節 木糖發酵之最終產物---酒精 12 第三章 菌種篩選 第一節 實驗材料 18 1.1 菌種 18 1.2 培養基 18 1.3 實驗儀器與設備 18 1.4 分析方法 19 第二節 實驗方法 20 第三節 菌種保存 20 第四節 結果與討論 21 第四章 木糖濃度對木糖醇產量之影響 第一節 實驗材料 26 1.1 菌種 26 1.2 培養基 26 1.3 實驗儀器與設備 26 1.4 分析方法 27 第二節 實驗方法 27 第三節 結果與討論 29 3.1 實驗結果 29 3.2 結果討論 30 第五章 添加界面活性劑對木糖醇產量之影響 第一節 實驗材料 38 1.1 菌種 38 1.2 培養基 38 1.3 實驗儀器與設備 38 1.4 分析方法 38 第二節 實驗方法 39 第三節 結果與討論 40 第六章 結論與展望 第一節 結論 46 第二節 未來展望 47 參考文獻 48

參考文獻

1. 王三郎編著。1994。應用微生物學。高立圖書有限公司。
2. 莊政道。1994。溶氧對木糖酒精發酵影響之研究。碩士論文。
3. 莫景棠。1988。各種新構想全靜脈營養液對肝臟功能不全病患之效益。榮民總醫院外科部。
4. 莫景棠。1988。全靜脈營養中以木糖醇代替傳統葡萄糖供給嚴重傷患之熱量。榮民總醫院。
5. 蕭永基。探討人類血小板細胞膜的結構與生理功能的關係：界面活性劑對人類血小板的影響。清華大學生命科學研究所。
6. Alexander, N. J. 1985. Temperature sensitivity of induction of xylose reductase in *Pachysolen tannophilus*. *Biotechnol. Bioeng.* 27:1739-1744.
7. Alexander, M. A., Chapman, T. W. 1988. Xylose metabolism by *Candida shehatae* in continuous culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28:478-486.
8. Baer, A., 1989. Significance and Promotion of Sugar Substitution for the Prevention of Dental Ca. *Lebensm. Wiss.u. Technol.*, pp.46-53.
9. Batt, C. A., Carvallo, S., Easson, D. D. Jr., Akedo, M. and Sinskey, A. J. 1986. Direct evidence for a xylose metabolic pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Bioeng.* 28:549-553.
10. Beall, David S., Ohta, K., Ingram, L. O. 1991. Parametric studies of ethanol production from xylose and other sugars by recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnol. Bioeng.* 38:296-303.
11. Bolen, P. L. and Detroy, R. W. 1985. Induction of NADPH-linked D-xylose reductase and NAD-linked xylitol dehydrogenase activities in *Pachysolen tannophilus* by D-xylose, L-arabinose, or D-galactose. *Biotechnol. Bioeng.* 27:302-307.
12. Bruinenberg, P. M., De Bet, P. H. M., VanDijken, J. P., Scheffers, W. A. 1984. NADH linked aldose reductase: the key to anaerobic alcoholic fermentation of xylose by yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19:256-260.
13. Du Preez, J. C., van Driessel, B. and Prior, B. A. 1989b. Ethanol tolerance of *Pichia stipitis* and *Candida shehatae* strains in fed-batch cultures at controlled low dissolved oxygen levels. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30:53-58.
14. Franta, R., 1986. Sweeteners 3. Alternative to Cane and Beet Sugar. *Food Technology.*, pp.116-128.
15. Girio, F. M., Peito, M. A. and Amaral-Collaco, M. T. 1989. Enzymatic and physiological study of D-xylose metabolism by *Candida shehatae*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 32:199-204.
16. Jeffries, T. W. and Sreenath, H. K. 1988. Fermentation of hemicellulosic sugar and sugar mixtures by *Candida shehatae*. *Biotechnol. Bioeng.* 27:302-307.
17. Lee, H. (1992) Reversible inactivation of D-xylose utilization by D-glucose in the pentose-fermenting yeast *Pachysolen tannophilus*. Elsevier Science Publishers. v. 92 (1) p. 1-4.
18. Lee, J. 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. Biotechnol.* 56:1-24.
19. Lu, J.; Tsai, L. B.; Gong, C. S.; Tsao, G. T. (1995) Effect of nitrogen sources on xylitol production from D-xylose by *Candida* sp. L-102. *Chapman & Hall.* v. 17 (2) p. 167-170.
- 20.

Meyrial, V. and Delgenes, J.P. and Moletta, R. and Navarro, J.M. (1991) Xylitol production from D-xylose by *Candida guilliermondii*: fermentation behaviour. *Biotechnol-Lett. Middlesex*, 13(4), 281-286. 21. Nollet, V.; Preziosi-Belloy, L.; Delgenes, J.P.; Navarro, J.M. (1993) Xylitol production from xylose by two yeast strains: sugar tolerance. Springer International. v. 27 (4) p. 191-197. 22. Ohta, K., Alterthum, F. and Ingram, L. O. 1990 Effects of environmental condition on xylose fermentation by recombinant *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:2:463-465. 23. Prior, B. A., Kilan, S. G. and Du Preez, C. 1989. Fermentation of D-xylose by the yeasts *Candida shehatae* and *Pichia stipitis*, *Process Biochemistry*, February, 21-26. 24. Priya C., Bisaria, V.S. (1998) Simultaneous Bioconversion of Cellulose and Hemicellulose to Ethanol. *Critical Reviews in Biotechnology*, 18(4):295-331. 25. Rex B. Shafer ; Allen S. Levine ; Julia M. Marlette ; John E. Morley., 1987. *Am. J. Clin. Nutr.*, pp.744-747. 26. Rizzi, M., Erlemann, P., Bui-Thanh, N. A. and Dellweg, H. 1988. Xylose fermentation by yeasts: 4. Purification and kinetic studies of xylose reductase from *Pichia stipitis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29:148-154. 27. Roseiro, J. C., Peito, M. A., Girio, F. M. and Amaral-Collaco, M.T. 1991. The effects of the oxygen transfer coefficient and substrate concentration on the xylose fermentation by *Debaryomyces hansenii*. *Arch. Microbiol.* 156: 484-490. 28. Slininger, P. J., Bolen, P. L., Kurtzman, C. P. 1987. *Pachysolen tannophilus*: properties and process considerations for ethanol production from D-xylose. *Enzyme Microb. Technol.* 9:5-15. 29. Slininger, P. J., Bothast, R. J., Ladisch, M. R. and Okos, M. R. 1990. Optimum pH and temperature conditions for xylose fermentation by *Pichia stipitis*. *Biotechnol. Bioeng.* 35:727-731. 30. Sreenath, H. K., Chapman, T. W. and Jeffries, T. W. 1986. Ethanol Production from D-xylose in batch fermentations with *Candida shehatae*: process variables. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24:294-299. 31. Tammy, P.; Philip, M. O., 1988. Xylitol in Sugar Free Confections. *Food Technology*, pp.98-106. 32. Tantirungkij, M., Nakashima, N., Seki, T. and Yoshida, T. 1993. Construction of xylose assimilating *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferment. Bioeng.* 75:2:83-88. 33. Wang, G. S. and Wang, L. H. 1989. Improvement on ethanol- tolerance of xylose-fermenting yeast by protoplast fusion. *Taiwan Sugar Res. Inst.* 124:29-37